



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADIÇÃO DE L- GLUTAMINA + ÁCIDO GLUTÂMICO E L-ARGININA NA DIETA
DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

David Rwbystanne Pereira da Silva

AREIA – PARAÍBA

FEVEREIRO DE 2016

David Rwbystanne Pereira da Silva

**ADIÇÃO DE L- GLUTAMINA + ÁCIDO GLUTÂMICO E L-ARGININA NA
DIETA DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Zootecnia, da Universidade
Federal da Paraíba, como
requisito parcial para obtenção
do título de Mestre em
Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal - Orientador principal

Profa. Dra. Terezinha Domiciano Dantas Martins

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva

AREIA-PB

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “Adição de L-Glutamina + ácido glutâmico e L-Arginina na dieta de leitões recém-desmamado”.

AUTOR: David Rwbystanne Pereira da Silva

ORIENTADOR: Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe
Examinador
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Examinador
Universidade Federal da Paraíba

Areia, 28 de setembro de 2015/

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

David Rwbystanne Pereira da Silva - Nascido no dia 11 de novembro de 1988, na cidade de Alexandria, Rio Grande do Norte, é filho de Guilhermina Milca Pereira da Silva e José Carlos Pereira da Silva. Concluiu o ensino médio na Escola Agrotécnica Federal de Sousa (Atual Instituto Federal da Paraíba - Campus Sousa) no ano de 2006. Obteve no ano de 2013 o grau de Médico Veterinário pela Universidade Federal de Campina Grande-PB, Campus de Patos. No ano de 2013 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba na cidade de Areia, concluindo em setembro de 2015.

EPÍGRAFE

Se quiser triunfar na vida, faça da perseverança a sua melhor amiga, da experiência a sua conselheira, da prudência o seu irmão mais velho e da esperança o seu anjo da guarda.

(Joseph Addison)

A minha irmã **D'ávila Cristina Pereira de Queiroz** (*In memoriam*) que mesmo sem estar presente entre nós, é e sempre será minha fonte inspiradora para obtenção de dias melhores.

DEDICO

Aos meus pais **Guilhermina Milca Pereira da Silva** e **José Carlos Pereira da Silva**, a minha amada irmã **Dalila Savana Pereira da Silva**, a minha namorada e companheira **Adriana Wanderleia Azevedo Silva** e minha querida Tia **Danielle Amally**.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela presença forte em minha vida e por me conceder tudo aquilo que sou e tenho. A Nossa Senhora, minha fiel intercessora que tanto roga por mim a Deus, e a São Miguel Arcanjo por toda a proteção contra as armadilhas e ciladas do inimigo.

Aos meus pais, Guilhermina Milca Pereira da Silva e José Carlos Pereira da Silva pelo amor incondicional e por acreditar em meus sonhos. Não sou nada sem vocês.

À minha amada irmã Dalila Savana Pereira pelo apoio incondicional durante esses anos.

À minha namorada e companheira Adriana Wanderleia Azevedo Silva pelo amor, companheirismo, carinho, dedicação e paciência nesses anos, que não foram fáceis. Você sempre demonstra o quão valioso é uma relação alicerçada na confiança e na cumplicidade. Te amo.

As meus tios Danielle Amally, Gilderlandia Pereira, Maria de Fátima, Mirtes Mirian, Maurílio Silva, Marliuton Silva, Mácio Queiroz e Marciano Queiroz e toda minha família pelo apoio de sempre. Muitas vezes quando tudo parecia impossível foram vocês que estavam ali, sempre prontos para me ajudar. Meu muito obrigado.

Ao meu orientador e amigo, professor Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal pela confiança e credibilidade depositada durante esse tempo. Acreditar em alguém que não se conhece é difícil, e você na sua capacidade de professor, educador e amigo sempre soube acolher e transmitir aquilo que tem de mais precioso, o conhecimento. Muito obrigado.

Aos professores examinadores Dr. Ricardo Romão Guerra e Dr. Pedro Henrique Watanabe pelas valiosas contribuições dedicadas a este trabalho.

Aos amigos Kenya, Leandro, Auriélio, Alcileide, Lavoisier, Zenilda, Hipólito, Eliene, Jaíza, Ana Paula, Emmanuel, Pedro Vitorino e Patrícia Brandão pelo carinho e força nos momentos difíceis.

A todos os mestres do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFPB pelos ensinamentos compartilhados.

Aos colegas de turma Gabrielle Castro, Guilherme Lima, Diana, Ayanne, Marilania, Vitória, Elivânia, Mikael, Gabriel, Gislayde, Elisabeth e todos os outros pelos momentos de descontração e coleguismo. Aos colegas do Núcleo de Estudo de

Coelhos e Suínos (NESC) Flávio Gomes, Jorge, Aparecida, Manuel, José Mares, Jordânio, Lucas e Cássio pela contribuição e ajuda no experimento e momentos de companheirismo durante minha estadia em Bananeiras.

A todos os funcionários e professores do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da UFPB, em especial a minha co-orientadora, a professora Dra. Terezinha Domiciano Dantas Martins e os funcionários: Ivanildo, José, Bruno, Reutmam, Sandra, Valquíria, Simone e Gesualdo pelo acolhimento, bom convívio e contribuições para a realização desse trabalho.

Aos colegas Eudes, Temístocles, Harlan, Aparecida e Marcos do Laboratório de Histologia e Patologia do Centro de Ciências Agrárias pela contribuição nas análises histológicas deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e todas as pessoas que direto ou indiretamente se esforçaram e acreditaram que tudo isso seria possível, MEU MUITO OBRIGADO!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para leitões de 5-9 kg.....	29
Tabela 2. Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para leitões de 9-15 kg.....	30
Tabela 3. Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para leitões de idade 15-30 kg.....	31
Tabela 4. Efeito da adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados sobre o ganho de peso médio diário (GMD), consumo médio diário (CMD) e conversão alimentar (CA).....	34
Tabela 5. Efeito L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina sobre a incidência de diarreia de leitões recém-desmamados.....	36
Tabela 6. Valores médios dos parâmetros sanguíneos de leitões em função da adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina nas idades e dias de colheitas.....	37
Tabela 7. Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) e relação altura das vilosidades:profundidade das criptas (AV/PC), espessura de mucosa (EM), espessura de vilo (EV), área absortiva (AA), densidade de vilos por área (DV) e contagem de células caliciformes (CC) do duodeno de leitões alimentados com L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina.....	38
Tabela 8. Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) e relação altura das vilosidades:profundidade das criptas (AV/PC), espessura de mucosa (EM), espessura de vilo (EV), área absortiva (AA), densidade de vilos por área (DV) e contagem de células caliciformes (CC) do jejuno de leitões alimentados com L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina.....	39

SUMÁRIO

Epígrafe.....	4
Agradecimentos.....	6
Lista de tabelas.....	8
Resumo Geral.....	10
Abstract.....	11
Capítulo 1: Referencial teórico.....	12
Considerações iniciais.....	13
1.1 Alguns aspectos sobre a nutrição de leitões.....	14
1.2 Importância da saúde intestinal.....	15
1.3 L-arginina na dieta de leitões.....	16
1.4 L-glutamina e ácido glutâmico na dieta de leitões.....	19
Capítulo 2: Adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados.....	21
Resumo.....	22
Abstract.....	24
Introdução.....	26
2. Material e métodos.....	27
2.1 Variáveis analisadas.....	32
2.1.1. Desempenho produtivo.....	32
2.1.2. Incidência de diarreia.....	32
2.1.3. Parâmetros sanguíneos.....	32
2.1.4. Morfometria intestinal.....	33
3. Análises estatísticas.....	34
4. Resultados e discussão.....	34
5. Conclusões.....	41
6. Referências.....	41

ADIÇÃO DE L- GLUTAMINA + ÁCIDO GLUTÂMICO E L-ARGININA NA DIETA DE LEITÕES RECÉM-DESMAMADOS

RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de L-Glutamina + ácido glutâmico e/ou L-arginina sobre o desempenho produtivo, incidência de diarreia, parâmetros séricos e a morfometria intestinal de leitões desmamados aos 28 dias de idade. Para tanto, foi realizado um experimento utilizando 64 leitões, sendo 32 machos castrados e 32 fêmeas da linhagem comercial Agrocere[®]. Os animais foram distribuídos em quatro tratamentos, sendo estes compostos por: DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina, com oito repetições, sendo dois animais por parcela experimental, um macho e uma fêmea. Os animais foram distribuídos em blocos ao acaso para controle do peso inicial ($6,120 \pm 0,622$ kg). Foram analisados os seguintes períodos: I-28 aos 35 dias, II- 28 aos 42 dias, III- 28 aos 49 dias e IV- 28 a 63 dias de idade. Os resultados demonstraram que a adição de 1% L-arginina na dieta de leitões, melhorou o ganho de peso dos animais e apresentou a melhor conversão alimentar. O melhor ganho de peso médio diário foi observado naqueles animais que receberam a dieta controle e a adição de 1% de L-glutamina + ácido glutâmico, como também os animais que receberam a adição de 1% L-arginina apresentaram a melhor conversão alimentar. As dietas em que foram adicionados os dois aminoácidos (DAM, DA e DGA) os animais apresentaram menor incidência de diarreia (11,31; 15,48 e 16,07% respectivamente). Houve diferença significativa para altura de vilo (AV), relação vilo/cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), espessura de vilo (EV), área absorptiva (AA), densidade de vilos por área (DV) e contagem de células caliciformes do duodeno, onde a maior altura de vilo, como também a maior relação vilo/cripta foi observada quando adicionado 1% L-glutamina + ácido glutâmico e 1% de L-arginina nas dietas. A utilização dos dois aminoácidos de forma conjunta ou em separados diminui a incidência de diarreia nos leitões recém-desmamados, não influencia o leucograma dos animais, porém melhora os parâmetros morfométricos do intestino delgado.

Palavras-chaves: saúde intestinal, morfometria, desmame, aminoácido

ADDITION OF L-GLUTAMINE + GLUTAMIC ACID AND L-ARGININE IN DIET PIGLETS WEANLING

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of supplementation of L-Glutamine + glutamic acid and / or L-arginine on performance, incidence of diarrhea, serum parameters and intestinal morphology of piglets weaned at 28 days of age. Therefore, an experiment was conducted using 64 pigs, 32 barrows and 32 females of the commercial line Agrocercos[®]. The animals were distributed in four treatments, which are composed of: DC- diet control, mainly composed of corn, soybean meal and milk product without supplemental L-glutamine + glutamic acid and L-arginine; DAM - Diet mainly composed of corn, soybean and milk product supplemented with 1% L-glutamine + glutamic acid; DA - Diet mainly composed of corn, soybean and milk product supplemented with 1% L-arginine; DGA - diet composed mainly of corn, soybean meal and milk product supplemented with 0.5% L-glutamine + glutamic acid and 0.5% L-arginine, with eight replications and two animals per experimental plot, a male and a female. The animals were distributed in blocks to control the initial weight (6.120 ± 0.622 kg). the following periods were analyzed: I-28 to 35 days, II- 28 to 42 days 28 to 49 days III and IV-28-63 days old. The results showed that addition of 1% L-arginine in the diet of pigs improved the weight gain of the animals and presented better feed conversion. The best average daily gain weight was observed in those animals that received the control diet and the addition of 1% L-glutamine + glutamic acid as well as animals that received the addition of 1% L-arginine showed the best feed conversion. Diets that were added two amino acids (DAM, DA and DGA) animals had a lower incidence of diarrhea (11.31; 15.48 and 16.07% respectively). There was a significant difference in villus height (AV), relationship villus / crypt (AV / PC) thick mucosal (iN), thickness of villi (EV) absorptive area (AA), villous density per area (DV) and goblet cell count of the duodenum, where the greatest height villus, as well as the higher ratio villus / crypt were observed when added 1% L-glutamine + glutamic acid and 1% L-arginine in the diets. the use of two amino acids in a joint or separate reduces the incidence of diarrhea in piglets weanling, does not influence the white blood cell count of animals, but improves the morphometric parameters of the small intestine.

Keywords: intestinal health, morphometry, weaning, amino acid

CAPÍTULO 1

REFERENCIAL TEÓRICO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O desmame é um momento crítico na produção de suínos, por reunir diversos fatores que podem prejudicar o desenvolvimento dos animais. O leitão tem os sistemas imunológico e digestório ainda em desenvolvimento, produção insatisfatória de enzimas específicas para digestão de ingredientes de origem vegetal e alta demanda por nutrientes.

Neste contexto, a manutenção da saúde intestinal é um importante fator para minimizar ou prevenir o baixo desempenho, a morbidade e a mortalidade dos leitões. Assim, os ingredientes da dieta devem ser selecionados para criar e estabelecer o equilíbrio no trato digestório, prevenindo assim, distúrbios em sua estrutura (Aumaitre, 2000).

Ao desmame, o metabolismo dos leitões e seu comportamento alimentar são caracterizados pela síndrome de adaptação geral (SAG) provocada pela quebra do ambiente social e pela mudança do consumo de leite materno para uma dieta balanceada e água, causando muitas vezes, anorexia e alterações metabólicas e fisiológicas da mucosa intestinal (Roura, 2004).

Há a necessidade crescente de minimizar os efeitos nocivos do desmame precoce dos leitões, criando assim, alternativas que enfatizam o manejo produtivo, nutricional e a biossegurança das granjas. Tem sido estudada com bastante frequência a utilização de dietas complexas, mais comum para sistemas de criações tecnificadas que buscam a máxima produtividade e melhor desempenho dos animais frente a esse desafio (Arantes et al., 2007).

A utilização de aminoácidos não essenciais, principalmente a L-glutamina + ácido glutâmico e a L-arginina, tem comprovada funcionalidade nos sistemas digestório e imunológico quando adicionados à dieta de leitões recém-desmamados. A sua utilização tem sido comprovada em diversas pesquisas no intuito de melhorar a saúde intestinal e o perfil imunológico dos animais, consequentemente melhorar o seu desempenho.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Alguns aspectos sobre a nutrição de leitões

Segundo Capalbo (2013), dentro dos parâmetros utilizados para se avaliar a eficiência na suinocultura, a produtividade da porca é considerada uma das mais importantes. O número de leitões produzidos por fêmea por ano permite prever a eficiência de produção de uma granja. Para aumentar os quilos de carne produzidos por fêmea por ano, o desmame precoce é uma das medidas utilizadas com o objetivo de diminuir os dias em que a fêmea permanece amamentando, e dessa maneira, aumentar o número de partos por ano.

Assim, os leitões são desmamados antes mesmo de serem capazes de produzir uma quantidade satisfatória de enzimas digestivas e anticorpos suficientes para a proteção entérica (Pluske et al., 1997). A imaturidade relacionada ao sistema imunológico e digestório dos leitões sobre a mudança na morfologia intestinal pode estar relacionada há vários fatores, como a idade ao desmame, a quantidade e composição da dieta ingerida, o tempo para as enzimas digestivas se adaptarem e/ou as mudanças no ambiente fisiológico e social (Van Djik et al., 2001). Assim, esses fatores influenciam a proliferação e o estado de diferenciação do epitélio, tendo um impacto significativo no desenvolvimento do intestino e consequentemente sobre a absorção dos nutrientes.

Lalles et al. (2004) relataram menor atividade das lactases e aminopeptidases de dois a quinze dias pós-desmama em dietas comuns para leitões, enquanto a maltase reduziu nos dois primeiros dias, ocorrendo um aumento de sua produção depois de oito a quinze dias pós-desmama. A fosfatase alcalina, que desempenha importante papel na desintoxicação de endotoxinas também tem significativa redução em leitões desmamados precocemente. Alterações no metabolismo de aminoácidos também são consequências do desmame de leitões podendo afetar a síntese proteica e, consequentemente, a deposição de tecido muscular (Montagne et al., 2007). Além disso, em resposta a ativação do sistema imunológico dos suínos, em função do desmame, ocorre redução do consumo de alimento e do crescimento, piora da eficiência alimentar e menor deposição de tecido magro (Williams et al., 1997).

O sistema digestivo de leitões é adaptado para componentes do leite. Após o desmame, é importante que as dietas sejam formuladas com ingredientes ricos em lactose que estimulam a ingestão de alimentos, ajudam na transição da dieta

aumentando assim sua aceitabilidade, melhorando o desempenho pós-desmame (McCarthy, 2005). No entanto, isto resulta num aumento nos custos de alimentação, que por sua vez, aumenta o custo total de produção.

Nesse contexto, o período pós-desmame dos leitões, tem trazido inúmeros problemas relacionados com o tipo e a qualidade das matérias-primas utilizadas em sua nutrição, o que poderá influenciar o desempenho do animal.

Para isso, torna-se necessário a utilização de ingredientes que possam aumentar a digestibilidade das dietas sem afetar a microflora e as estruturas intestinais, consequentemente teremos um desenvolvimento melhor do trato digestório, fazendo com que ocorram maior absorção e utilização de nutrientes e melhor expressão do desempenho dos animais.

1.2. Importância da saúde intestinal

A saúde intestinal está relacionada ao desenvolvimento e integridade da mucosa, à composição da microbiota e atuação do sistema imunológico intestinal (Bandeira et al., 2007). A chamada barreira intestinal constitui-se de barreiras físicas, fisiológicas, enzimáticas e imunológicas, as quais estão sob o controle neuro-hormonal (Soderholm, 2001).

Como primeira linha de defesa contra bactérias e toxinas tem-se a barreira física que as separa da circulação sistêmica. O epitélio intestinal consiste de uma única camada de células prismáticas começando na junção gastro-esofágica e se estendendo até o epitélio escamoso do canal anal. Esta barreira física é seletivamente permeável e capaz de prevenir a transmigração de substâncias patológicas lumbais do ambiente externo, isto é, do lúmen, para o ambiente interno (Fukatsu et al., 2011).

A renovação celular deste sistema ocorre de forma ordenada, aproximadamente a cada cinco a sete dias sob o controle de vários fatores. A mucosa é coberta por microproteínas sob a forma de mucina, que reveste a sua superfície para também compor barreira física às bactérias. A mucina contém elevadas concentrações de defensinas e outras moléculas antibacterianas tais como lactoferrina, lisozimas e outras. Sob as condições de grave estresse e com alterações na ingestão oral normal, ocorrem reduções na camada de mucina, decréscimo dos peptídeos antimicrobianos e aumento da permeabilidade da mucosa para enfraquecer essa defesa intrínseca, tornando-a vulnerável à invasão bacteriana (Fukatsu et al., 2011).

O epitélio exerce ainda uma defesa fisiológica importante na secreção de fluido e mucina, juntamente com IgA secretória, para dentro do lúmen, tendo como função básica a neutralização de substâncias nocivas ao epitélio e a saúde do indivíduo (Soderholm, 2001). Caracteriza-se ainda, por uma população celular dinâmica, assim as células epiteliais encontradas nas criptas são imaturas e tornam-se cada vez mais diferenciadas à medida que se deslocam no sentido apical da vilosidade. Deste modo, existem nas paredes ascendentes das criptas, células em diferentes estágios de maturação.

Este *turnover* ocorre constantemente sem qualquer risco à integridade da barreira mucosa, mas requer regulação precisa da proliferação e diferenciação celular. Para tal, torna-se necessário a presença de fatores de crescimento, componentes da matriz extracelular, substratos metabólicos, prostaglandinas e estímulos imunológicos (Podolsky, 2002).

A alteração na estrutura do intestino delgado constitui-se em importante mecanismo para o aparecimento de diarreias nos leitões. O baixo consumo de ração verificado após o desmame pode levar a alterações morfológicas (encurtamento e mudança da forma das vilosidades, hiperplasia das células da cripta e aumento da mitose no epitélio celular) e funcionais no intestino. Essas mudanças podem acarretar em declínio da função intestinal com redução nas atividades enzimática e absorptiva, resultando em diarreia e baixo desempenho nos leitões desmamados. Assim, é extremamente importante aumentar o consumo de alimento nos animais desmamados para que a ocorrência de diarreia seja reduzida e o ganho de peso aumentado (Lima et al., 2009).

Estudar fatores que limitam o crescimento e manutenção das células do sistema digestório, como também avaliar a integridade física da mucosa diante de alimentos que possibilitem o seu desenvolvimento torna-se de grande necessidade, tendo em vista a importância desse sistema para o desenvolvimento dos animais, principalmente nessa fase de transição das dietas utilizadas.

1.3. L-arginina na dieta de leitões

A L-arginina é um aminoácido básico, além de ser o maior carregador de nitrogênio em humanos e animais, é um dos aminoácidos mais versáteis nas células,

servindo como precursor para síntese não apenas de proteína, mas também de óxido nítrico, ureia, poliaminas, prolina, glutamato, creatina e agmatina (Wu; Morris, 1998).

No catabolismo, as fontes de arginina circulante no plasma são exógenas (dieta) e endógenas (degradação de proteína corporal, somado a síntese endógena a partir da citrulina). A síntese endógena de arginina varia conforme a espécie, estado nutricional e estágio de desenvolvimento e pode ser feita a partir da citrulina, que por sua vez pode ser sintetizada a partir da glutamina ou da prolina. Estas vias metabólicas envolvem diversas enzimas, algumas das quais estão presentes em uma grande variedade de tipos de células, enquanto que a expressão de outras enzimas é restrita a órgãos específicos, como fígado, mucosa intestinal e rins. Isto resulta em funções metabólicas altamente compartimentalizadas em diferentes órgãos, sendo que na maioria dos animais, a via metabólica completa da síntese de arginina é encontrada somente no intestino delgado de neonatos. Em suínos, entretanto, a via completa também está presente em animais ao desmame. Em animais adultos, a maior parte da síntese endógena de arginina envolve uma via interórgãos (conhecida como eixo intestinal-renal), na qual o intestino delgado libera citrulina na circulação sanguínea que é retirada primeiramente pelos rins para a conversão em arginina (Wu; Morris, 1998).

Dentre as funções da arginina, destaca-se, a participação na secreção de insulina pelas células β do pâncreas e do hormônio de crescimento (GH), além de atuar como modulador imunológico devido ao seu papel como um substrato para o sistema imune (Wu et al., 2009).

Embora não seja considerado um aminoácido essencial para animais adultos, a arginina é um aminoácido essencial para máximo crescimento em mamíferos jovens (incluindo leitões), que têm uma necessidade desse aminoácido para crescimento e funções metabólicas particularmente elevadas. A deficiência de arginina pode ocorrer em várias condições nutricionais e clínicas, incluindo baixo fornecimento desse aminoácido na dieta, redução da síntese intestinal de citrulina, deficiências genéticas em enzimas envolvidas na sua síntese, problemas no transporte, super-expressão do gene da arginase intestinal e redução na conversão de citrulina em arginina nos rins. A deficiência de arginina causa ainda, retardo no crescimento, disfunção intestinal e reprodutiva, reduzido desenvolvimento neurológico e imune, anormalidades pulmonares e cardiovasculares, reduzida capacidade de cicatrização, hiperamonemia e até a morte (Wu et al., 2007).

Exceto a ornitina e a citrulina, que não são substratos para a síntese proteica, os aminoácidos participantes do metabolismo da arginina são abundantes nos alimentos de origem vegetal (milho e soja) e animal (farinhas de peixe e de sangue), sendo que suas exigências em dietas convencionais são comumente atendidas para suínos em crescimento, terminação e gestação (Wu; Morris, 1998). Entretanto, fêmeas suínas em fase de lactação e leitões neonatos apresentam um déficit na síntese endógena de arginina, o que pode limitar seu desempenho ou comprometer seu sistema imune (Li et al., 2007).

Estudos com a suplementação de arginina na dieta de leitões verificaram que os efeitos protetores da arginina estão associados à redução na expressão gênica de citocinas intestinais pro inflamatórias através da ativação PPARgamma (Liu et al., 2008). Objetivando comprovar o déficit de desempenho em leitões, devido à deficiência de arginina, Wu et al. (2007) avaliaram níveis de 0,2 e 0,4% de arginina suplementar para leitões dos 7 aos 21 dias e obtiveram uma redução da amônia plasmática (20 e 35%), um aumento na concentração plasmática de arginina (30 e 61%) e no ganho de peso (28 e 66%), atribuindo esses efeitos aos níveis suplementares de arginina na dieta.

Da mesma forma, Han et al. (2009) avaliando os efeitos da adição de L-arginina sobre o desempenho e função imune em leitões recém desmamado imunossuprimidos com ciclofosfamida, verificaram que o uso da arginina reduziu o decréscimo do ganho de peso induzido pela ciclofosfamida administrada aos 21 e 28 dias de idade. A adição de arginina promoveu ainda a redução do número total de células brancas aos 28 dias, e aumentou o percentual de linfócitos aos 21 dias, reduzindo o tempo de reação hipersensitiva.

Sendo assim, se faz necessário aumentar as pesquisas com esse aminoácido buscando melhorar o desempenho e o estado imunológico dos animais, principalmente os animais jovens que ainda não tem o sistema imunológico amadurecido, tendo em vista que a síntese endógena não atende às exigências para as inúmeras funções no organismo, tais como a síntese proteica, a divisão celular, a cicatrização, a vasodilatação, além da participação nas defesas imunes e na estimulação e liberação da secreção hormonal.

1.4. L-glutamina e ácido glutâmico na dieta de leitões

Alguns aminoácidos têm importantes funções fisiológicas e podem, em determinadas situações, ser necessários em maior quantidade, tornando-se condicionalmente essenciais. Entre esses aminoácidos, destaca-se a L-glutamina e o L-ácido glutâmico, que, por estarem envolvidos na multiplicação celular, são importantes para as células do sistema imune e do epitélio intestinal (Yi et al., 2005).

A glutamina é um dos aminoácidos mais importantes e mais abundantes no organismo (Li et al., 2010) e está intimamente relacionada com a promoção da proliferação de células, como as células da mucosa intestinal, linfócitos e fibroblastos. É um importante substrato energético e de produção de nucleotídeos para enterócitos, hepatócitos, macrófagos, linfócitos e tecido linfóide associado ao intestino. Embora não seja considerado um aminoácido essencial. Durante uma situação de estresse prolongado, a produção tecidual deste, pode não atender as demandas sistêmicas e a glutamina se torna condicionalmente essencial (Fukatsu et al., 2011). Trata-se de um aminoácido neutro, que apresenta em sua estrutura dois grupos nitrogenados facilmente metabolizáveis. Sua síntese ocorre a partir do glutamato pela enzima glutamato-sintetase, e a hidrólise pela ação da enzima glutaminase, levando à formação de glutamato e amônia. As células dos rins, fígado, intestino delgado e do sistema imune são suas mais importantes consumidoras. Em condições normais, o músculo esquelético libera constantemente glutamina, mantendo as concentrações plasmáticas estáveis (Zavariza et al., 2010).

O glutamato é definido como sendo o ânion carboxilato e os sais do ácido glutâmico. O ácido glutâmico é classificado como um aminoácido não essencial, porém, possui papel funcional, especialmente na mucosa intestinal, pois é o maior contribuinte para a produção de energia, atuando como precursor para a biossíntese da glutatona e dos aminoácidos prolina e alanina, além de ser substrato no metabolismo intermediário (Reeds et al., 2000). Já o glutamato é responsável por 40% da síntese de glutamina (Newsholme et al., 2003), que por sua vez tem participação direta na síntese de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos nucleicos e açúcares aaminados (Smith, 1990).

A glutamina e o glutamato desempenham papéis especiais na síntese da ureia. O grupo amino desses aminoácidos é transferido para o α -cetoglutarato no citosol dos hepatócitos para a formação do glutamato que será então transportado para a mitocôndria onde a ureia será formada. O excesso de amoníaco (NH_3) de outros tecidos

é convertido no grupo amina da glutamina e transportada para mitocôndria do hepatócito, onde pode ser utilizada (Nelson; Cox, 2003).

Na via do glutamato, a glutamina é importante para a síntese de glutathione, o mais abundante antioxidante celular do organismo animal. O muco e o complexo de junção, que protegem o epitélio intestinal, são ricos em glicoproteínas que são sintetizados a partir de glucosamina-6-fosfato, de cuja síntese participa a glutamina (Sakomura et al., 2014).

As células no sistema imune proliferam muito rapidamente, e a glutamina facilita este processo, funcionando como um precursor biossintético e como uma fonte de energia. Também preserva o sistema, provavelmente por proteção antioxidante, por promover maior eficácia da função da barreira intestinal, bem como por promover a proliferação de linfócitos e de melhorar a ação de neutrófilos e macrófagos (Gulbas, 2010).

O efeito da glutamina e do glutamato sobre a reconstituição da mucosa intestinal tem sido investigado, devido ao fato desses aminoácidos serem o principal metabólito que nutre os enterócitos e em altas concentrações, ser precursor para a formação dos ácidos nucleicos, permitindo resposta imediata para a proliferação das células sem entrar em outras rotas do metabolismo (Zavarize et al., 2010).

A suplementação de glutamina também melhora a imunidade da mucosa através do aumento do número de linfócitos nas placas de Peyer e na lâmina própria, normalização parcial dos níveis teciduais de citocinas de resposta imune do tipo Th2, e por melhora nos níveis de IgA nas mucosas respiratória e intestinal (Fukatsu et al., 2011).

O uso da glutamina na dieta de leitões desmamados tem apresentado resultados positivos na manutenção da estrutura morfológica do intestino no período do desmame, um período crítico para o animal tendo em vista as inúmeras adversidades encontrados pelos mesmos, como relatado anteriormente.

A suplementação da dieta de suínos com 1% de L-glutamina + ácido glutâmico melhorou o desempenho zootécnico na fase de creche (Abreu et al., 2010), reforçando a hipótese da ação benéfica desses aminoácidos na integridade do trato intestinal, com consequente benefício na digestão e na absorção de nutrientes na fase pós-desmame, que é considerada crítica no desenvolvimento de leitões.

CAPÍTULO 2

Adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

SILVA, D. R. P. Adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção de Não ruminantes) Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. Orientador: Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal.

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de L-Glutamina + ácido glutâmico e/ou L-arginina sobre o desempenho produtivo, incidência de diarreia, parâmetros séricos e a morfometria intestinal de leitões desmamados aos 28 dias de idade. Para tanto, foi realizado um experimento utilizando 64 leitões, sendo 32 machos castrados e 32 fêmeas da linhagem comercial Agroceres[®]. Os animais foram distribuídos em quatro tratamentos, sendo estes compostos por: DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta controle com adição de 1% de L-glutamina + ácido glutâmico; DA – Dieta controle com a adição de 1% de L-arginina; DGA – Dieta controle com a adição de 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina, com oito repetições, sendo dois animais por parcela experimental, um macho e uma fêmea. Os animais foram distribuídos em blocos ao acaso com peso inicial de $6,120 \pm 0,622$ kg. A adição de 1% L-arginina na dieta de leitões melhorou o ganho de peso dos animais e apresentou a melhor conversão alimentar no período de 28-35 dias de idade. No segundo período (28 a 42 dias de idade) o melhor ganho de peso médio diário foi observado naqueles animais que receberam a dieta controle e a adição de 1% de L-glutamina + ácido glutâmico, como também os animais que receberam a adição de 1% L-arginina apresentaram a melhor conversão alimentar. No terceiro período analisado (28-49 dias de idade) foi observado melhor ganho de peso médio diário naqueles animais alimentados com a dieta controle e com a adição de 1% de L-glutamina + ácido glutâmico. As dietas em que foram adicionados os dois aminoácidos (DAM, DA e DGA) os animais apresentaram menor incidência de diarreia (11,31; 15,48 e 16,07% respectivamente), quando comparado com a dieta controle. Houve efeito significativo para o número de leucócitos totais e neutrófilos segmentados, quando

comparada entre as idades. Houve efeito significativo para todas as estruturas morfológicas intestinais dos leitões, observando maiores valores naqueles segmentos a quais os animais foram submetidos às dietas que continham os dois aminoácidos estudados de forma conjunta ou em separado. A utilização dos dois aminoácidos de forma conjunta ou em separados melhora o desempenho dos animais, diminui a incidência de diarreia em leitões recém-desmamados, não influencia o leucograma dos animais e melhora os parâmetros morfométricos do intestino delgado.

Palavras chave: absorção, imunidade, saúde intestinal, vilo

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

SILVA, D. R. P. Adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção de Não-ruminantes) Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. Orientador: Prof. Dr. Leonardo Augusto Fonseca Pascoal.

Abstract - The objective of this study was to evaluate the effects of supplementation of L-Glutamine + glutamic acid and / or L-arginine on performance, incidence of diarrhea, serum parameters and intestinal morphology of piglets weaned at 28 days of age. Therefore, an experiment was conducted using 64 pigs, 32 barrows and 32 females of the commercial line Agrocères[®]. The animals were distributed in four treatments, which are composed of: DC- diet control, mainly composed of corn, soybean meal and milk product without supplemental L-glutamine + glutamic acid and L-arginine; DAM - Control diet with added 1% L-glutamine + glutamic acid; DA - Control diet with the addition of 1% L-arginine; DGA -Dieta control with the addition of 0.5% of L-glutamine + glutamic acid and 0.5% L-arginine, with eight replications and two animals per experimental plot, a male and a female. The animals were distributed in blocks with initial weight of 6.120 ± 0.622 kg. The addition of 1% L-arginine in piglets diet improved animal weight gain and showed the best feed in the period of 28-35 days old. In the second period (28 to 42 days of age) the best gain, average daily weight was observed in those animals that received the control diet and the addition of 1% L-glutamine + glutamic acid as well as animals that received the addition of 1% L-arginine showed the best feed. In the third analysis period (28-49 days old) was best observed daily weight gain of those animals fed the control diet and with the addition of 1% L-glutamine + glutamic acid. The diets that were added two amino acids (DAM, DA and DGA) the animals had a lower incidence of diarrhea (11.31; 15.48 and 16.07% respectively), when compared with the control diet. There was a significant effect on the total number of leukocytes and segmented neutrophils compared between ages. There was a significant effect for all intestinal morphological structures of piglets, observing higher values in those segments to which the animals were subjected to diets containing the two amino acids studied jointly or separately. The use of two amino acids in a joint or separate improved animal performance, reduce the incidence of diarrhea in weaned piglets, does not influence leukocyte profile and improves the morphometric parameters of the small intestine.

Keywords: absorption, immunity, intestinal health, villus

INTRODUÇÃO

O desmame de leitões é uma fase crítica na produção de suínos por reunir diversos fatores que podem prejudicar o desenvolvimento dos animais. Por ocasião do desmame, a mudança de alimento, a forma física da ração, a variação na proporção dos nutrientes, bem como o estresse de ordem social, ocasionam mudanças estruturais no trato gastrointestinal (TGI), resultando em baixo consumo e aproveitamento de alimentos, com alta susceptibilidade à ocorrência de infecções entéricas nas primeiras semanas após o desmame, propiciando assim, baixo desempenho e, muitas vezes, alta taxa de mortalidade dos animais (Silva et al., 2012).

Neste contexto, a manutenção da saúde intestinal é um importante fator para minimizar ou prevenir o baixo desempenho, morbidade e susceptibilidade a infecções entéricas, pois, o desenvolvimento funcional do trato gastrointestinal, que engloba o desenvolvimento dos enterócitos e mucosa, da microbiota e do sistema imunológico intestinal, está diretamente relacionado ao desempenho do animal (Bandeira et al. 2007). As alterações na estrutura do intestino delgado dos leitões, evidenciadas pela redução na altura das vilosidades e aumento na profundidade das criptas, levam ao menor número de células absorptivas e maior de secretoras, o que está associado às diminuições do consumo voluntário e da capacidade de absorção dos nutrientes, e do aumento na ocorrência de problemas entéricos (Hotzel; Machado Filho, 2004).

Desta forma, os ingredientes alimentares geralmente utilizados para favorecer o estabelecimento da saúde intestinal em leitões como os derivados do leite e outros ingredientes de origem animal, apresentam custo elevado, e o uso de antibióticos como promotores do crescimento, tem sido restringido na produção animal, tornando assim importante à busca por novas tecnologias ou ingredientes alimentares, capazes de contribuir para o funcionamento eficaz do trato gastrointestinal dos animais, favorecendo o bom desempenho.

Descobertas recentes têm indicado funções adicionais para alguns aminoácidos no funcionamento do intestino, melhorando a digestão e absorção dos nutrientes, e o sistema imunológico de leitões desmamados (Abreu et al. 2010; Roth, 2008; Wang et al. 2008; Wu et al. 2010). Dentre estes, encontram-se a L-glutamina, ácido glutâmico e a L-arginina (Hannas et al., 2010), substâncias com ação trófica sobre a mucosa intestinal e sobre o sistema imune.

O uso da L-glutamina + ácido glutâmico na dieta de leitões desmamados tem apresentado resultados positivos na manutenção da estrutura morfológica do intestino delgado quando esse adicionado ao nível de 1% na primeira semana após o desmame (Abreu et al., 2010). Da mesma forma Han, et al. (2009) avaliando os efeitos da adição de L-arginina sobre o desempenho e função imune em leitões recém desmamado imunossuprimidos com ciclofosfamida, verificaram que o uso da L-arginina aliviou o decréscimo do ganho de peso induzido pela ciclofosfamida administrada aos 21 e 28 dias de idade como também aumento no número de linfócitos.

Portanto, esse estudo teve por objetivo avaliar a influência da utilização de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina de forma conjunta e em separado sobre o desempenho, incidência de diarreia, parâmetros séricos e a morfometria intestinal de leitões recém-desmamados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Suinocultura do Departamento de Ciência Animal do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCHSA/UFPB), Campus III, localizado na cidade de Bananeiras – PB no período de Fevereiro a Abril de 2015. O projeto teve aprovação pelo comitê de ética no uso de animais da UFPB com certidão emitida sob o número de protocolo de número 0405/14.

Foram utilizados 64 animais, da linhagem comercial Agrocere[®], sendo 32 machos castrados e 32 fêmeas, desmamados aos 28 dias de idade com peso inicial médio de $6.120 \pm 0,622$ kg.

Os animais foram alojados em gaiolas de creche suspensas de 1,5 por 2,0 m com piso plástico vasado, dotados de comedouros e bebedouros semiautomáticos, localizados em um galpão de alvenaria com piso de concreto. Durante os primeiros 20 dias do período experimental, foram utilizadas lâmpadas incandescentes de 100W, possibilitando o aquecimento dos leitões. As temperaturas máxima e mínima, como também a umidade relativa do ar foram mensuradas três vezes ao dia, sempre as 07:h00, 12:h00 e 17:h00 com o auxílio de um termohigrômetro. As temperaturas médias máximas e mínimas registradas foram de 29,8 e 24,1°C, e valores médios de 68,3 e 52,8% para umidade relativa do ar máxima e mínima, respectivamente.

Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental em blocos ao acaso, tendo o peso inicial como critério para formação dos blocos, constituindo quatro tratamentos com oito repetições e dois animais por unidade experimental, sendo um macho e uma fêmea. Os tratamentos consistiram de: DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina.

As rações foram formuladas (Tabelas 1, 2 e 3) segundo recomendações de Rostagno et al., (2011) para suínos de alto potencial genético, sendo as mesmas isoenergéticas e isoproteicas obedecendo a faixa de peso dos animais. Nas dietas não foram adicionados promotores de crescimento. Durante o período experimental os animais receberam água e ração à vontade. A L-glutamina e o ácido glutâmico foram administrados pela adição do Aminogut[®] nas dietas experimentais.

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para leitões de 5-9 kg¹.

Ingredientes (kg)	Dietas experimentais			
	DC⁴	DAM⁴	DA⁴	DGA⁴
Farelo de milho	51,04	54,18	57,04	55,61
Farelo de soja	29,46	27,51	23,80	25,66
Soro de leite em pó	8,59	8,00	8,00	8,00
Óleo de soja	5,50	4,74	5,34	5,04
Calcário calcítico	0,75	0,76	0,77	0,76
Fosfato bicálcico	1,57	1,60	1,63	1,62
L-glutamina + A. glutâmico	0,00	1,00	0,00	0,50
L-Arginina	0,00	0,00	1,00	0,50
L-Lisina HCL	0,70	0,76	0,87	0,82
DL-Metionina	0,28	0,30	0,32	0,30
L-Triptofano	0,05	0,06	0,09	0,08
L-Treonina	0,31	0,34	0,39	0,37
Premix mineral e vitamínico ²	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,17	0,18	0,18	0,18
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02
Inerte ³	1,00	0,00	0,00	0,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
Valores calculados (%)				
Energia metabolizável (Mcal/Kg)	3,400	3,400	3,400	3,400
Proteína bruta	20,00	20,00	20,00	20,00
Cálcio	0,85	0,85	0,85	0,85
Fósforo disponível	0,45	0,45	0,45	0,45
Triptofano digestível	0,26	0,26	0,26	0,26
Arginina digestível	1,23	1,23	1,93	1,50
Lisina digestível	1,45	1,45	1,45	1,45
Metionina digestível	0,55	0,55	0,56	0,55
Metionina + Cistina digestível	0,82	0,82	0,81	0,81
Treonina digestível	0,91	0,91	0,91	0,91

¹Valores nutricionais obtidos dos ingredientes foram recomendados por Rostagno et al. (2011). ²Premix mineral e vitamínico fornecendo por kg de ração: 100 mg Fe, 10 mg Cu, 0,3 mg de Se, 40 mg Mn, 100 mg Zn, 1 mg de Co, 1,5 mg I; 3; 9000 UI vit. A, 2250 UI vit. D3, 22,5 mg vit.E, 22,5 mg vit. K3, 2,03 mg vit. B1, 6 mg vit. B2, 3 mg vit. B6, 30 µg vit. B12, 0,9 mg ácido fólico, 14,03 mg ácido pantotênico, 30 mg niacina, 0,12 mg biotina, 400 mg de colina. ³Areia lavada. ⁴DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina.

Tabela 2. Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para leitões de 9-15 kg¹.

Ingredientes (kg)	Dietas experimentais			
	DC⁴	DAM⁴	DA⁴	DGA⁴
Farelo de milho	49,98	50,3	56,08	54,65
Farelo de soja	33,28	31,7	27,42	29,28
Soro de leite em pó	7,00	7,00	7,00	7,00
Óleo de soja	5,00	5,00	4,64	4,34
Calcário calcítico	0,67	0,67	0,69	0,68
Fosfato bicálcico	1,60	1,62	1,63	1,62
L-glutamina + A. glutâmico	0,00	1,00	0,00	0,50
L-Arginina	0,00	0,00	1,00	0,50
L-Lisina HCL	0,45	0,50	0,62	0,56
DL-Metionina	0,17	0,19	0,22	0,20
L-Triptofano	0,01	0,23	0,04	0,03
L-Treonina	0,18	0,20	0,26	0,23
Premix mineral e vitamínico ²	0,28	0,00	0,00	0,00
Sal comum	0,33	0,33	0,33	0,33
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02
Inerte ³	1,00	1,37	0,00	0,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
Valores calculados (%)				
Energia metabolizável (Mcal/Kg)	3,375	3,375	3,375	3,375
Proteína bruta	21,00	21,00	21,00	21,00
Cálcio	0,82	0,82	0,82	0,82
Fósforo disponível	0,45	0,45	0,45	0,45
Triptofano digestível	0,23	0,23	0,23	0,23
Arginina digestível	1,13	1,19	2,04	1,61
Lisina digestível	1,33	1,33	1,33	1,33
Metionina digestível	0,46	0,46	0,48	0,47
Metionina + Cistina digestível	0,74	0,74	0,74	0,74
Treonina digestível	0,83	0,83	0,83	0,83

¹Valores nutricionais obtidos dos ingredientes foram recomendados por Rostagno et al. (2011). ²Premix mineral e vitamínico fornecendo por kg de ração: 100 mg Fe, 10 mg Cu, 0,3 mg de Se, 40 mg Mn, 100 mg Zn, 1 mg de Co, 1,5 mg I; 3; 9000 UI vit. A, 2250 UI vit. D3, 22,5 mg vit.E, 22,5 mg vit. K3, 2,03 mg vit. B1, 6 mg vit. B2, 3 mg vit. B6, 30 µg vit. B12, 0,9 mg ácido fólico, 14,03 mg ácido pantotênico, 30 mg niacina, 0,12 mg biotina, 400 mg de colina. ³Areia lavada. ⁴DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina.

Tabela 3. Composição centesimal das dietas experimentais utilizadas para leitões de 15-30 kg¹.

Ingredientes (kg)	Dietas experimentais			
	DC⁴	DAM⁴	DA⁴	DGA⁴
Farelo de milho	64,54	67,19	70,05	68,61
Farelo de soja	28,94	29,93	23,21	25,07
Óleo de soja	1,82	1,05	1,65	1,35
Calcário calcítico	0,55	0,56	0,58	0,57
Fosfato bicálcico	1,58	1,59	1,62	1,60
L-glutamina + A. glutâmico	0,00	1,00	0,00	0,50
L-Arginina	0,00	0,00	1,00	0,50
L-Lisina HCL	0,39	0,45	0,56	0,50
DL-Metionina	0,09	0,11	0,14	0,12
L-Triptofano	0,00	0,00	0,02	0,01
L-Treonina	0,12	0,15	0,20	0,18
Premix mineral e vitamínico ²	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,40	0,40	0,41	0,40
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02
Inerte ³	1,00	0,00	0,00	0,00
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
Valores calculados (%)				
Energia metabolizável (Mcal/Kg)	3,230	3,230	3,230	3,230
Proteína bruta	19,2	19,2	19,2	19,2
Cálcio	0,72	0,72	0,72	0,72
Fósforo disponível	0,40	0,40	0,40	0,40
Triptofano digestível	0,19	0,19	0,19	0,19
Arginina digestível	1,13	1,09	1,94	1,51
Lisina digestível	1,14	1,14	1,14	1,14
Metionina digestível	0,37	0,37	0,37	0,37
Metionina + Cistina digestível	0,64	0,64	0,64	0,64
Treonina digestível	0,72	0,72	0,72	0,72

¹Valores nutricionais obtidos dos ingredientes foram recomendados por Rostagno et al. (2011). ²Premix mineral e vitamínico fornecendo por kg de ração: 100 mg Fe, 10 mg Cu, 0,3 mg de Se, 40 mg Mn, 100 mg Zn, 1 mg de Co, 1,5 mg I; 3; 9000 UI vit. A, 2250 UI vit. D3, 22,5 mg vit.E, 22,5 mg vit. K3, 2,03 mg vit. B1, 6 mg vit. B2, 3 mg vit. B6, 30 µg vit. B12, 0,9 mg ácido fólico, 14,03 mg ácido pantotênico, 30 mg niacina, 0,12 mg biotina, 400 mg de colina. ³Areia lavada. ⁴DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina.

2.1. Variáveis analisadas

2.1.1. Desempenho produtivo

Para a determinação das variáveis de desempenho, os animais e as rações fornecidas foram pesados no início e final de cada período experimental, bem como as sobras de ração, obtendo-se o consumo médio diário (CMD), o ganho médio diário (GMD) e a conversão alimentar (CA). Os resultados de desempenho foram analisados nos seguintes períodos: I – dos 28 aos 35 dias de idade; II – dos 28 aos 42 dias de idade; III – dos 28 aos 49 dias de idade e IV – dos 28 aos 63 dias de idade.

2.1.2. Incidência de diarreia

Com o objetivo de verificar a influência das dietas experimentais sobre a incidência de diarreia, foi realizado o levantamento dos escores fecais dos leitões, nos primeiros 21 dias do período experimental. Duas vezes ao dia, foi verificada a consistência das fezes, às 8:h00 e às 17:h00, mediante análise visual, de acordo com os seguintes escores: 1 – fezes normais, 2 – fezes pastosas e 3 – fezes aquosas. Os escores 1 e 2 foram considerados fezes não diarreicas e o 3 diarreicas. Estas identificações foram realizadas sempre pelo mesmo observador.

2.1.3. Parâmetros séricos

Para o monitoramento do padrão sanguíneo e contagem diferencial de células, foram colhidas amostras de sangue por meio de punção da veia mamária do mesmo leitão de cada baia aos 42 e 49 dias de idade. Em cada colheita foram retirados 2 ml de sangue para determinação leucograma, cujas análises foram realizadas com a utilização do kit ACT-PAC coulter. Estas análises foram realizadas no Centro de Análises e Diagnósticos Veterinários (CADVE) na cidade de Campina Grande-PB.

Foram analisadas as concentrações leucócitos totais – Le (mm^3), como também, a contagem diferencial de leucócitos, obtendo-se o número de eosinófilos, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos.

Para os dados dos parâmetros sanguíneos foi utilizado o esquema em parcelas subdivididas, sendo as parcelas as dietas experimentais, e as sub-parcelas, as idades em que foram colhidas as amostras.

2.1.4. Morfometria intestinal

Para estudo da estrutura do intestino delgado, foram colhidas amostras (± 3 cm) da porção inicial do duodeno e da porção média do jejuno. Para isso, um animal de cada parcela no final do terceiro período (49 dias de idade) foi submetido a um jejum de 12 horas, e em seguida, encaminhado para o abatedouro do CCHSA/UFPB obedecendo ao protocolo de abate humanitário, sendo abatidos para coleta dos segmentos intestinais. Os segmentos intestinais (Duodeno e Jejuno) foram fixados em solução de Metacarn (60% de metanol; 30% de clorofórmio; 10 de ácido acético) por doze horas, e mantidos sobre refrigeração. Percorrido esse tempo, colocados em solução de álcool (70%). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Histologia do programa de Pós-graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias, Campus de Areia/UFPB, para confecção das lâminas histológicas, onde foram realizadas as análises morfométricas do epitélio intestinal por microscopia de luz.

Para confecção das lâminas, as amostras permaneceram em solução de álcool (70%) por 24 horas. Após este período, foram lavadas em água corrente para retirada do fixador e posteriormente desidratadas em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. A microtomia das mesmas foi realizada à espessura de $5\mu\text{m}$, sendo realizados de 6 a 8 cortes semi-seriados para cada segmento de cada animal. A coloração dos cortes para visualização de altura de vilo (AV), profundidade de cripta (PC), espessura de vilo (EV), espessura de mucosa (EM) e densidade de vilo por área (DV) foi realizada com hematoxilina-eosina, já para visualização e contagem de células caliciformes (CC), a coloração utilizada foi a PAS (Ácido-periódico Schiff).

Para as leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX60 e câmera Zeiss Axion acoplada com programa de captura de imagens digitais Motic Image Plus 2.0. Para avaliar a altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC), relação vilo/cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), espessura de vilo (EV) e contagem de células caliciformes foi realizada a metodologia descrita por Moreira Filho et al. (2015) modificada. A área absorptiva foi determinada a partir da seguinte equação: $\text{Altura de vilo} \times \text{Largura de vilo}$. A densidade de vilos por área foi calculada através da multiplicação de uma área total de $3.500 \times 3.500 \mu\text{m}^2$ pelo total de vilos contados em $3.500 \mu\text{m}^2$, sendo assim, foi determinado o total de vilos numa área de $12.500 \mu\text{m}^2$, sendo o total de vilos corrigidos para área de $10.000 \mu\text{m}$.

3. Análises estatísticas

Os dados observados foram submetidos à análise de variância por meio do procedimento GLM (General Linear Models) no programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 1998) e a comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey com um nível de significância de 5%.

A normalidade dos erros foi testada pelo teste de Cramer-von Misses, de acordo com Everitt (1998). Para a avaliação da incidência de diarreia foi utilizada a estatística não paramétrica, sendo as médias comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis (5%).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4. Efeito da adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina na dieta de leitões recém-desmamados sobre o ganho de peso médio diário (GMD), consumo médio diário (CMD) e conversão alimentar (CA).

	Dietas experimentais				CV (%)	P
	DC	DAM	DA	DGA		
28 a 35 dias de idade						
GMD (g)	237,67 b	258,46 ab	290,25 a	231,43 b	23,96	0,0369*
CMD (g)	289,85	310,85	290,18	291,35	14,57	0,7197
CA (g/g)	1,30 ab	1,49 a	1,22 b	1,29 b	16,05	0,0124*
28 a 42 dias de idade						
GMD (g)	244,64 ab	260,71 a	235,70 b	237,50 b	16,83	0,0139*
CMD (g)	331,58	340,40	315,33	330,46	10,09	0,5155
CA (g/g)	1,47 ab	1,39 b	1,35 b	1,49 a	16,21	0,0236*
28 a 49 dias de idade						
GMD (g)	288,01 ab	291,10 a	270,01 b	261,22 b	12,93	0,0056*
CMD (g)	397,70	403,46	382,48	388,77	9,95	0,7179
CA (g/g)	1,38 ab	1,37 b	1,34 b	1,48 a	8,41	0,0227*
28 a 63 dias de idade						
GMD (g)	382,50	381,25	363,93	343,79	13,83	0,4021
CMD (g)	565,94	562,04	542,10	566,23	7,73	0,6441
CA (g/g)	1,49	1,47	1,55	1,54	13,21	0,8238

¹DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina.

Observa-se que no período de 28 a 35 dias, o ganho médio diário (GMD) dos leitões foi maior com quando receberam a dieta suplementada com 1% de L-Arginina

(DA), já o menor valor para o GMD foi observado quando os animais receberam a dieta controle que, ao mesmo tempo, não diferiram dos valores obtidos quando estes receberam a dieta com 1% de L-glutamina + ácido glutâmico e quando suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina. Não foi observado efeito significativo ($P>0,05\%$) para a variável consumo médio diário (CMD). Foi observada que a adição de 1% de L-glutamina + ácido glutâmico piorou a conversão alimentar, já a melhor conversão alimentar foi observada quando adicionado 1% de L-arginina na dieta, porém, essa não diferiu quando comparado com os tratamentos da dieta controle e da dieta adicionada de 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina (DGA).

Na fase de 28 aos 42 dias de idade, o maior GMD foi observado nos animais que receberam a dieta contendo 1% de L-glutamina + ácido glutâmico (DAM) diferindo-a assim das dietas que continha a adição de 1% de L-arginina e 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina, ao mesmo tempo não diferindo da dieta controle (DC). Não foram observados efeitos significativos ($P>0,05\%$) para variável CMD nesta fase. Houve efeito significativo para variável CA, sendo a melhor conversão observada para aqueles animais que receberam 1% de L-arginina na dieta quando comparada ao tratamento que recebeu a suplementação de 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina.

O melhor GMD obtido na fase de 28 a 49 dias de idade foi observado quando adicionado à dieta 1% de L-glutamina + ácido glutâmico, quando comparado com as dietas suplementadas com 1% de L-arginina e a dieta contendo 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina. Não foram observados efeitos significativos ($P>0,05\%$) para as variáveis CMD nesse período. Para a variável CA, foram observados efeitos significativos ($P<0,05\%$), onde a melhor CA foi observada nos animais que receberam dietas contendo 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina. Não foi observado efeito significativo quando avaliado o período de 28 a 63 dias de idade para nenhuma das variáveis analisadas.

A L-glutamina + ácido glutâmico e a L-arginina são importantes no desenvolvimento de tecidos com rápido *turno ver* como a mucosa intestinal o que é importante para leitões, pois o comprometimento da integridade das vilosidades do intestino delgado que ocorre após o desmame, reduz a área de absorção e a produção enzimática (Hedeman et al., 2003), dificultando assim a absorção dos nutrientes e consequentemente ganho de peso dos animais. Além disso, são importantes também

para a resposta imunológica (Sauer et al., 2012). Observa-se nesse trabalho que nos tratamentos suplementados com a L-glutamina + ácido glutâmico e a L-arginina ocorre uma melhora em algumas variáveis do desempenho dos animais, provavelmente ocasionado pela alteração nessas estruturas do trato gastrointestinal que tem relação direta com a absorção dos nutrientes, embora que os efeitos benéficos da suplementação de L-glutamina e L-arginina na sua maioria, foram observados em experimentos sob desafios como estresse, doenças ou estados inflamatórios (Dai et al., 2009; Soltan et al., 2009), o que não ocorreu nesse trabalho.

Os dados dessa pesquisa corroboram com os encontrados por Teixeira et al. (2014) que ao adicionar níveis de L-glutamina + ácido glutâmico (0,5; 1,0 e 1,5%) na dieta de leitões desmamados aos 21 dias de idade observaram melhora no desempenho dos animais ao se adicionar 1%, estes porém já discordam dos encontrados por Abreu et al. (2010) e Tucci et al. (2011) que não observaram melhora no desempenho de leitões desmamados precocemente alimentados com dietas contendo níveis L-glutamina e/ou plasma suíno (1 e 2% respectivamente) nas duas primeiras semanas após o desmame. Yi et al. (2005) também não encontraram efeitos da L-glutamina (2%) quando adicionado a dieta dos animais após o desmame e sugeriu que o baixo desafio durante o período experimental pode explicar a baixa eficiência da L-glutamina, já que no mesmo trabalho quando os animais foram desafiados com *Escherichia coli*, aqueles que recebiam a suplementação de L-glutamina apresentaram melhor desempenho.

Tabela 5. Efeito da adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina sobre a incidência de diarreia de leitões recém-desmamados.

Dietas experimentais				
Escore	DC	DAM	DA	DGA
3 (%)	17,23 a	11,31 b	15,48 ab	16,07 a

¹DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina.

A maior incidência de diarreia foi observada naqueles animais que receberam a dieta controle e DGA, conforme observado na Tabela 5. A menor incidência de diarreia foi observada nos animais que receberam L-glutamina + ácido glutâmico na dieta, não diferindo daqueles que receberam L-arginina.

Caldara et al. (2010) descobriram que o a suplementação de 1% de L-glutamina + ácido glutâmico em dietas de leitões desmamados acelera a proliferação de células da mucosa intestinal, indicando uma resposta positiva na rotatividade do processo de renovação da mucosa e adaptação dos leitões ao desmame, influenciando assim na manutenção da integridade do epitélio e menor índice de diarreia. Nesse contexto, a L-arginina atua na manutenção das células de defesa presentes na mucosa do intestino, impedindo a proliferação de patógenos (Han et al., 2009). Dessa forma, a ação em separado desses aminoácidos, quando adicionados em 1% na dieta dos animais, possivelmente favoreceu a diminuição da incidência de diarreia. Estes dados corroboram com os encontrados por Teixeira et al. (2014) que observaram menor incidência de diarreia ao adicionar 1% de L-glutamina + ácido glutâmico na dieta de leitões desmamados aos 21 dias de idade.

Tabela 6. Valores médios dos parâmetros sanguíneos de leitões em função da adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina nas idades e dias de colheitas.

Variáveis	Dietas Experimentais				Idade		CV(%)	Efeitos		
	DC	DAM	DA	DGA	35	42		D	I	D x I
Le	23.10	22.38	21.54	22.94	25.71 a	19.27 b	23,92	NS	**	NS
Ns	8.305	8.352	7.459	8.495	10.365 a	5.943 b	36,07	NS	**	NS
Linfo	13.415	12.156	12.668	13.279	13.765	11.993	33,99	NS	NS	NS
Eos	184,63 a	80,75 b	142,13 ab	167,94 a	186,09 a	101,63b	26,97	*	**	NS
Mon	1.163 a	1.233 a	1.007 ab	807 b	1.195 a	910 b	24,96	*	*	NS
Pl (mm ³)	538.131	514.588	521.713	545.888	564.253	495.878	25,82	NS	*	NS

¹DC – Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina. ²D = Dias e I= idade. Médias seguidas da mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). NS: não significativo (P>0,05); *(P<0,05); **(P<0,01). ³Le = Leucócitos totais; Ns = Neutrófilos segmentados; Linfo = Linfócitos; Eos = Eosinófilos; Mon = Monócitos; Pl = Plaquetas.

Todos os valores encontrados no leucograma dos animais apresentaram-se normais quando comparados às tabelas de referência (Fraser, 1991; Kaneko et al., 1989).

Houve efeito significativo apenas para o número de leucócitos totais e neutrófilos segmentados, quando comparada entre as idades, como também para o

número de eosinófilos e monócitos, que também apresentaram efeito significativo quando comparado os dias de colheita.

O aumento do número de neutrófilos segmentados, eosinófilos e monócitos no primeiro dia de colheita (35 dias) podem ser em decorrência do início da maturação do sistema imunológico dos animais, tendo em vista que essas células pertencem à primeira linha de defesa do organismo e geralmente estão relacionados ao primeiro contato dessas células com antígenos. Podemos ainda observar na Tabela 6, que no segundo dia de colheita (49 dias) o número dessas células diminuem e consequentemente o número de leucócitos totais.

Estes dados corroboram com os mesmos encontrados por Robles-Huaynate et al., (2014) que ao avaliarem probiótico na dieta de suínos em crescimento, encontraram valores semelhantes para leucócitos totais, neutrófilos e eosinófilos.

Tabela 7. Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) e relação altura das vilosidades:profundidade das criptas (AV/PC), espessura de mucosa (EM), largura de vilo (EV), área absortiva (AA), densidade de vilos por área (DV) e contagem de células caliciformes (CC) do duodeno de leitões alimentados com L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina.

	Dietas experimentais				CV(%)	P
	DC	DG	DA	DGA		
	Duodeno					
AV (μm)	340,28 b	371,31 ab	425,80 ab	449,34 a	14,88	0,0051*
PC (μm)	334,55	329,03	304,40	345,88	13,34	0,7323
AV/PC	1,06 b	1,13 ab	1,40 a	1,30 ab	18,67	0,0376*
EM (μm)	674,83 b	700,34 ab	730,19 ab	795,23 a	10,51	0,0277*
EV (μm)	165,54 b	178,43 a	146,90 b	185,95 a	10,78	0,0019*
AA (μm^2)	57.769 b	66.844 b	62.249 b	84.626 a	21,43	0,0074*
DV (Vilo/ μm^2)	87,62 b	116,75 a	123,62 a	116,62 a	10,21	0,0407*
CC	9,17 c	11,01 b	14,18 a	11,42 b	11,16	0,0350*

¹DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina. ² Médias seguidas da mesma letra na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Observa-se na Tabela 7, que houve efeito significativo (P<0,05) para altura de vilo (AV), relação vilo/cripta (AV/PC), espessura de mucosa (EM), espessura de vilo (EV), área absortiva (AA), densidade de vilos por área (DV) e células caliciformes (CC) do duodeno, onde a maior altura de vilo foi observada quando adicionado à dieta 0,5%

L-arginina e 0,5% L-glutamina + ácido glutâmico. A menor altura de vilo foi observada no intestino daqueles animais que não receberam na dieta a suplementação de nenhum dos aminoácidos estudados. Quando realizado a relação da altura de vilos pela profundidade de cripta, nota-se que a maior relação foi obtida quando incluído 1% de L-arginina na dieta, quando esta comparada com a dieta controle.

A maior EM foi observada quando adicionado 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina na dieta, esta por sua vez não difere dos tratamentos contendo 1% de L-glutamina + ácido glutâmico e 1% de L-arginina, diferindo apenas quando os animais foram alimentados com a dieta controle. A maior EV foi observada nos tratamentos adicionados de 1% de L-glutamina e 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina na dieta. A maior área absortiva foi observada quando adicionado 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina na dieta.

A adição dos aminoácidos nas rações, utilizados de forma conjunta ou em separado resultam em maior densidade de vilos por área quando ambos comparado com a dieta controle. O maior número de células caliciformes (CC) foi encontrado quando adicionado 1% de L-arginina na dieta dos animais, tendo a dieta controle apresentado o menor número de células caliciformes.

Tabela 8. Médias de altura das vilosidades (AV), profundidade das criptas (PC) e relação altura das vilosidades:profundidade das criptas (AV/PC), espessura de mucosa (EM), Espessura de vilo (EV), área absortiva (AA), densidade de vilos por área (DV) e contagem de células caliciformes (CC) do jejuno de leitões alimentados com L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina.

	Dietas experimentais				CV(%)	P
	DC	DG	DA	DGA		
	Jejuno					
AV (µm)	340,63	368,90	345,88	375,15	13,85	0,4410
PC (µm)	276,56	264,64	257,02	250,58	13,86	0,5319
AV/PC	1,23	1,39	1,34	1,50	17,11	0,1666
EM (µm)	617,19	633,54	602,09	625,73	13,16	0,8264
EV (µm)	131,57 b	146,26 ab	153,51 ab	169,40 a	11,31	0,0021*
AA (µm ²)	44.955 b	52.933 ab	53.198 ab	63.628 a	16,03	0,0031*
DV (vilo/µm ²)	117,37 b	132,75 a	130,25 a	114,00 b	5,65	0,0441*
CC	11,14	12,17	12,48	11,45	15,88	0,5356

¹DC- Dieta controle, composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo, sem suplementação de L- glutamina + ácido glutâmico e L-arginina; DAM – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Glutamina + ácido glutâmico; DA - Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo suplementada com 1% de L-Arginina; DGA – Dieta composta principalmente por milho, farelo de soja e produto lácteo

suplementada com 0,5% de L-Glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-Arginina. ² Médias seguidas da mesma letra na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Na Tabela 8 observa-se que houve efeito significativo ($P<0,05\%$) para espessura de vilo, área absorptiva e densidade de vilos por área, onde a maior espessura de vilos foi observada no jejuno daqueles animais que receberam a adição de 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina na dieta quando comparada com os da dieta controle. A maior área absorptiva apresentada foi quando adicionado 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico e 0,5% de L-arginina na dieta. Observa-se ainda que a maior densidade de vilos por área foi observada quando adicionado à dieta 1% de L-glutamina + ácido glutâmico e 1% de L-arginina.

A maturação dos enterócitos ocorre durante o processo de migração da cripta para a zona apical do vilo, e é dependente de estímulos para a sua diferenciação, principalmente por citocinas e reguladores de diferenciação celular. O número e tamanho dos vilos dependem do número de células que compõem a mucosa. Assim, quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilo, e por consequência, maior a área de absorção de nutrientes (Maiorka et al., 2002), o que provavelmente deve ter ocorrido para proporcionar um aumento na altura dos vilos e menor profundidade de criptas de ambos os segmentos intestinais (duodeno e jejuno), quando adicionados os dois aminoácidos de forma conjunta ou em separado.

Em determinadas situações, a L-glutamina torna-se condicionalmente essencial por estar envolvida na multiplicação celular, atuando na formação das células do sistema imune e epitélio intestinal (Wu et al., 2007), tornando-se fonte de energia para enterócitos, favorecendo assim sua multiplicação (Fox et al., 1988). Já a L-arginina atua como modulador imunológico devido ao seu papel de substrato para o sistema imune (Wu et al., 2009), dessa forma impedindo a proliferação de patógenos que possam se aderir à mucosa intestinal e desencadear algum processo inflamatório, lesionando assim o epitélio e dificultando a absorção de nutrientes.

A ação benéfica verificada para o glutamato, provavelmente se deve ao fato de ser o principal combustível oxidativo para as células do intestino, além de ser considerado precursor para outras moléculas biologicamente ativas, incluindo a glutatona, prolina e arginina, que são importantes antioxidantes celulares e compõem glicoproteínas presentes no muco intestinal (Wu et al., 2007).

Estes dados corroboram com os encontrados por Liu et al. (2008) que ao avaliarem o efeito da suplementação de L-arginina em atenuar os danos intestinais induzidos pela *E. coli* como desencadeador de inflamação em leitões recém desmamados, verificaram que nos três segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) a adição de 0,5 e 1% de L-arginina reduziu os danos morfológicos intestinais induzidos pela *E. Coli* e aliviaram a indução da proliferação de células da cripta e o aumento da apoptose das células dos vilos, aumentando por sua vez a área de absorção de nutrientes.

Da mesma forma, Lescano et al. (2013) ao avaliarem diferentes níveis de inclusão de L-glutamina + ácido glutâmico (0; 0,4; 0,8; 1,2%) na dieta de leitões recém desmamados, verificaram que a inclusão de 0,8% melhorou a altura dos vilos do duodeno. Esses dados, porém, discordam dos encontrados por Shan et al. (2012) que ao avaliar a inclusão de 1% de L-glutamina na dieta de leitões desmamados aos 28 dias não encontraram diferença ($P>0,05$) para morfologia intestinal do duodeno e jejuno.

5. CONCLUSÕES

A adição de L-glutamina + ácido glutâmico e L-arginina utilizados de forma conjunta ou separados melhora o ganho de peso médio diário, como também diminui a incidência de diarreia e melhora os parâmetros morfométricos intestinais de leitões recém-desmamados.

6. REFERÊNCIAS

- ABREU, M.L.T. et al. Glutamina, nucleotídeos e plasma suíno em rações para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 520-525, 2010.
- ARANTES, V. M. et al. Níveis de Zinco na dieta de leitões recém-desmamados sobre o perfil de parâmetros séricos. **Ciência Animal Brasileira**, V. 8, n. 2, p. 193-205, 2007.
- AUMAITRE, L. A. Adptation and efficiency of the digestive process in the gut of the young piglet: Consequences for the formulation of a weaning diet. In: Special Issue, Swine Nutrition Session, **Journal of Animal Science**, v.13, p.227-242, 2000.
- BANDEIRA, C. M.; FONTES, D. O.; SOUZA, L. P. O. Saúde intestinal dos leitões: um conceito novo e abrangente. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. 54, p. 74-97, 2007.

- CALDARA, F.R. et al. Glutamina e turnover do carbono da mucosa intestinal de leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2664-2669, 2010.
- DAI, S. F. et al. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. **British poultry Science**, v. 50, p. 240-333, 2009.
- FUKATSU, K. et al. Nutrition and gut immunity. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, n. 91, p. 755-770, 2011.
- FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Schalm's veterinary hematology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott, **Williams & Wilkins**, 2000. 1344 p.
- FRASER, C. M. Manual Merck de Veterinária: Um manual de diagnóstico. 7 ed. **São Paulo. Roca**, 1991, 2169p.
- FOX, A. D. et al. Dexamethasone administration induces increased glutamine specific activity in the jejunum and colon. **Journal of Surgical Research**, V. 44, n. 4, p. 391-396, 1988.
- HAN, J. et al. Dietary L-arginine supplementation alleviates immunosuppression induced by cyclophosphamide in weaned. **Amino acids**, v. 37, n.4, p.643-651, 2009.
- HÖTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. Comportamento e bem estar de leitões em relação à idade do desmame. **Revista Porkworld**, Campinas, v. 21, p. 34-38, 2004.
- HEDEMANN, M. S. et al. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1375-1386, 2003.
- KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 4. ed. California: Academic Press, 1989. p. 932.
- LESCANO, D. et al. Evaluation of dietary glutamic acid plus glutamine levels on the growth performance of piglets. **Journal of Animal Science**, v. 91, p.107, 2013. E-Suppl. 2 /Journal Dairy of Science, v.96, E-Suppl. 1, T307.
- LIMA, G. J. M. M. et al. As diarreias nutricionais na suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, p.17-30, 2009.
- LI, Y. et al. Protective effect of glutamine-enriched early enteral nutrition on intestinal mucosal barrier injury after liver transplantation in rats. **The American Journal of Surgery**, Birmingham, v. 199, p. 35-42, 2010.
- LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D.F. et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, v.98, p.237-252, 2007.
- LIU, Y. et al. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by Escherichia coli lipopolysaccharide in weaned pigs. **British Journal of Nutrition**, v.100, n.3 p.552-560, 2008.

LALLES, J. et al. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. **Animal Research**, v.53, p.301-316, 2004.

MONTAGNE, L. et al. Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 97, n.1, p. 45-57, 2007.

MAIORKA, A. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52 n. 5, p. 487-490, 2002.

NEWSHOLME, P. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.153-163, 2003.

HÖTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. Comportamento e bem estar de leitões em relação à idade do desmame. **Revista Porkworld**, Campinas, v. 21, p. 34-38, 2004.

PODOLSKY, D. K. Inflammatory bowel disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 347, n. 6, p. 417-429, 2002.

PLUSKE, J. R. et al. Morphological and functional changes in the small intestine of the newly weaned pig. In: PIVA, A.; KNUDSEN, K.E.B.; LINDBERG, J.E. *Gut environment of pigs*. **Nottingham: University Press**, 1997. p.1-27.

ROBLES-HUAYNATE, R. A. et al. Probiótico em dietas de suínos sobre os parâmetros sanguíneos e digestibilidade de rações. **Semina: Ciências agrárias**, v. 35, n. 5, p. 1627-1635, 2014.

REEDS, P. J. et al. Intestinal glutamate metabolism. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 4, p. 978-982, 2000.

ROURA, E. Changes in piglet feeding behaviour at weaning: digestive development and dietary factors. In: II CONGRESSO LATINO AMERICANO DE SUINOCULTURA, 2004, Fóz do Iguaçu, **Anais...** Foz do Iguaçu, p.115-124, 2004.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição dos alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed., Viçosa: UFV, 2011. 186p.

ROTH, E. Nonnutritive Effects of Glutamine. **Journal of Nutrition**. v.138, p. 2025S–2031S, 2008.

SAKOMURA, N. K. et al. Nutrição de não-ruminantes. 1. Ed., **FUNEP**, 2014. 678p.

SILVA, S. Z. Mananoligossacarídeo em dietas para leitões desmamados. **Braz. Journal Veterinary. Animal Science**, Sao Paulo, v. 49, n. 2, p. 102-110, 2012.

SAUER, N. et al. The role of dietary nucleotides in single-stomach animals. **Nutrition Research Reviews**, V, 13, p. 1-14, 2012.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**, Jaboticabal: FUNEP, 2007, 283p.

SÖDERHOLM, J. D.; PERDUE, M. H. Stress and intestinal barrier function. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**, Bethesda, v. 280, n. 1, p. 7-13, 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. *SAS users guide: statistics*. Cary: SAS, 1998. 956p.

SOLTAN, M. A. Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broilers chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 8 (1), p. 60-68, 2009.

SMITH, R. J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **Journal of Parenteral and enteral Nutrition**, v. 14, p. 40-44, 1990.

TEIXEIRA, A. O. et al. Inclusion of glutamine associated with glutamic acid in the diet of piglets weaned at 21 days of age. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 4, p. 881-896, 2014.

WU, X. et al. Dietary supplementation with L-arginine or N- carbamy l-glutamate enhances intestinal growth and heat shock protein-70 expression in weanling pigs fed a corn- and soybean meal-based diet. **Amino Acids**, v. 39, p. 831–839, 2010.

WANG, J. et al. Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. **Journal of Nutrition**, v.138, p. 1025-1032, 2008.

WU, G. et al. Important roles for the arginine family of amino acids in swine nutrition and production. **Livestock Science**, Atlanta, v.112, p.8- 22, 2007.

WU, G. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, p.1–17, 2009.

WU, G.; MORRIS, S.M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, London, v.336, p.1-17, 1998.

WILLIAMS, N.H.; STAHLY, T.S.; ZIMMERMAN, D.R. Effect of chronic immune system activation on rate, efficiency, and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2463-2471, 1997.

YI, G. F. et al. Effect of glutamina and spray-dried on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* I K88+ - challenged weaned pigs. **Journal Animal Science**, v.83, p.634-643, 2005.

ZAVARIZE, K. C. et al. Utilização de glutamina na nutrição de monogástricos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 109, p. 573-576, 2010.